

PENGARUH IMPLANTASI *POROUS TANTALUM* BERLAPIS HIDROKSIAPATIT TERHADAP GAMBARAN DARAH MERAH TIKUS *SPRAGUE DAWLEY*

The Effect of Porous Tantalum Coated by Hydroxyapatite Implantation in Sprague Dawley Rat on Red Blood Parameters

Budianto Panjaitan^{1,2}, Gunanti³, Deni Noviana³, Mokhamad Fakhrol Ulum³, dan Irza Sukmana⁴

¹Program Studi Ilmu Biomedis Hewan Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor

²Laboratorium Klinik Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh

³Departemen Klinik, Reproduksi dan Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor, Bogor

⁴Jurusan Teknik Mesin Fakultas Teknik Universitas Lampung, Bandar Lampung

E-mail: antopjt@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengetahui gambaran darah merah pada tikus yang diimplan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit. Dalam penelitian ini digunakan 12 ekor tikus jantan, galur *Sprague Dawley*, umur ± 3 bulan yang dibagi dalam tiga kelompok yaitu kelompok kontrol tanpa implant (K1), kelompok implan *porous tantalum* (K2), dan kelompok implan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit (K3). Pengambilan darah dilakukan melalui vena pada ekor di hari ke-0 sebelum pemasangan implan, ke-14, dan ke-30 setelah pemasangan implan. Pengamatan data parameter darah merah meliputi jumlah sel darah merah, kadar hemoglobin (Hb), dan persentase hematokrit. Hasil perhitungan jumlah sel darah merah, kadar Hb, dan hematokrit menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$) pada masing-masing kelompok perlakuan kecuali jumlah sel darah merah pada kelompok tikus yang yang diimplan dengan *porous tantalum* tanpa lapis meningkat pada hari ke-30 dan menunjukkan perbedaan dibandingkan kelompok lainnya ($P < 0,05$). Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa implan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit *in vivo* memengaruhi jumlah sel darah merah tetapi tidak memengaruhi kadar hemoglobin dan persentase hematokrit pada tikus *Sprague Dawley*.

Kata kunci: implan biomaterial, lapis hidroksiapatit, *porous tantalum*, tikus, darah merah

ABSTRACT

The aim of this study was to find out the red blood profile of the rat after implanted with porous tantalum coated by hydroxyapatite implants. Twelve male rats, Sprague Dawley, ± 3 months of age used in this study were divided into three groups: control without implants (K1), porous tantalum (K2), and hydroxyapatite coated porous tantalum group (K3). Blood sample was collected from the tail vein on day 0 before implanted, then, day 14 and day 30 after implantation. The examination of red blood profile was carried out including the number of red blood cells, concentration of hemoglobin, and percentage of packed cell volume. The result of red blood cells count, hemoglobin, and packed cell volume showed that there was no significant difference ($P < 0.05$) among each treatment group. However, only on the red blood cells count in porous tantalum non coated group at day 30 was higher than other groups ($P < 0.05$). In conclusion, implantation of tantalum porous with or without coated by hydroxyapatite has no significant differences in the red blood cells count, concentration of hemoglobin, and percentage of packed cell volume.

Key words: biomaterial implant, hydroxyapatite coated, porous tantalum, rat, red blood

PENDAHULUAN

Implan biomaterial merupakan salah satu bagian terpenting dalam dunia ortopedi dan gigi. Biomaterial yang baik adalah material yang memiliki biokompabilitas yang tinggi (Fathi dan Mortazavi, 2007). Tantalum merupakan biomaterial logam yang memiliki struktur yang mirip dengan tulang (Cohen, 2002), bersifat antibakteri (Schildhauer *et al.*, 2006), memiliki biokompabilitas dan bioaktivitas yang tinggi (Maho *et al.*, 2012). Namun demikian, penggunaan biomaterial tantalum padat sebagai implan biomedis memiliki daya regenerasi tulang yang rendah. Pengembangan lebih lanjut dilakukan dengan membuat porous (berpori) untuk meningkatkan proses osteogenesis dan regenerasi jaringan (Karageorgiou dan Kaplan, 2005).

Tantalum porous merupakan suatu bahan metal baru yang memiliki karakteristik mirip dengan tulang trabekula (Levine *et al.*, 2006). Selain itu, mengombinasikan bahan implan logam dengan

biokeramik kalsium fosfat dan hidroksiapatit sebagai bahan pelapis pada logam titanium memberikan efek osteoinduktif (Habibovic *et al.*, 2002). Penelitian ini menguji secara *in vivo* implan porous tantalum yang dilapisi dengan hidroksiapatit pada tulang femur tikus. Pengaruh implantasi pada tikus diamati terhadap parameter darah merah sebagai informasi ilmiah respons darah merah terhadap implan porous tantalum berlapis hidroksiapatit.

MATERI DAN METODE

Dalam penelitian ini digunakan tikus Sprague Dawley jantan sebanyak 12 ekor dengan umur ± 3 bulan, memiliki bobot badan 180-200 g. Adaptasi hewan dilakukan selama 2 minggu sebelum perlakuan untuk mengondisikan semua hewan dalam status sehat secara klinis. Tikus dikelompokkan dalam 3 kelompok perlakuan meliputi kelompok kontrol yaitu tikus yang tidak mendapatkan pemasangan implan (K1), kelompok tikus yang dipasang implan porous tantalum

tanpa lapis (K2), dan kelompok tikus yang dipasang implan porous tantalum berlapis hidroksiapatit (K3).

Sebelum implantasi, tikus dibius dengan menggunakan kombinasi ketamin (Illium, Troy Laboratories, Australia) 30 mg/kg bobot badan dan xylazin (Illium, Troy Laboratories, Australia) 5 mg/kg bobot badan secara intraperitoneum (IP). Selanjutnya, rambut di sekitar paha kanan bagian lateral dicukur dan desinfeksi dengan iodine tincture. Tikus yang terbius kemudian diletakkan di atas meja operasi dengan posisi lateral recumbency. Kulit paha disayat 1-2 cm sejajar dengan tulang femur kanan. Selanjutnya, pada tulang femur dibuat celah dengan ukuran $\pm 5,0 \times 2,0 \times 0,5 \text{ mm}^3$ menggunakan bor tulang. Kemudian implan disisipkan pada celah yang telah dibuat untuk kelompok implan baik tanpa maupun dengan lapis hidroksiapatit sedangkan kelompok kontrol tanpa disisipkan implan. Otot dan kulit dijahit dengan menggunakan benang sintesis *absorbable polyactin* 910 ukuran 5/0, selanjutnya luka dibalut dengan perban. Setelah implantasi, hewan dipelihara dalam kandang pemeliharaan dan diberi antibiotik Doxycyclin® (PT. Indofarma, Jakarta) 10 mg/kg bobot badan per hari selama 5 hari berturut-turut untuk menghindari infeksi pasca-implantasi.

Sampel darah perifer sebanyak 1 ml diambil melalui vena pada ekor pada hari ke-0 sebelum implantasi, hari ke-14 dan hari ke-30 setelah implantasi. Darah disimpan dalam tabung yang berisi antikoagulan *ethylenediaminetetraacetic acid* (EDTA) dan selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah sel darah merah, kadar hemoglobin, dan persentase hematokrit.

Analisis Data

Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis dengan analisis varian pola faktorial menggunakan perangkat lunak *statistical package for social sciences* (SPSS) versi 16.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan dalam kurun waktu 30 hari pasca-implantasi bertujuan mengetahui perubahan-perubahan pada gambaran darah merah yang terjadi dalam tubuh individu. Data hasil perhitungan jumlah sel darah merah pada masing-masing kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$), kecuali pada kelompok tikus yang diimplan dengan porous tantalum tanpa lapis pada hari ke-30 seperti yang disajikan pada Tabel 1. Meskipun demikian, peningkatan jumlah sel darah merah pada kelompok porous tantalum tanpa lapis masih dalam kisaran nilai normal darah tikus (Thrall *et al.*, 2012).

Fungsi sel darah merah secara dinamis mengatur proses keseimbangan kebutuhan oksigen dan distribusi nutrisi didalam tubuh serta membuang sisa metabolisme berupa CO_2 (Arosa *et al.*, 2004). Jika perfusi darah berkurang menyebabkan kecukupan oksigen terganggu sehingga hipoksia seluler dapat terjadi dan menyebabkan gangren terutama pada sebagian besar daerah-daerah mengalami kerusakan pembuluh darah (Plock *et al.*, 2009). Selain itu, kurangnya aliran darah merah dapat menyebabkan morbiditas lanjutan misalnya, terjadinya luka kronis,

Tabel 1. Jumlah sel darah merah (juta/mm³) pada kelompok tikus kontrol, kelompok tikus yang diimplan *porous tantalum* tanpa lapis, dan kelompok tikus dengan yang diimplan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit

Hari	Kelompok perlakuan		
	Kontrol (K1)	<i>Porous tantalum</i> tanpa lapis hidroksiapatit (K2)	<i>Porous tantalum</i> berlapis hidroksiapatit (K3)
0	7,85±0,60 ^a	7,85±0,60 ^a	7,85±0,60 ^a
14	8,84±0,78 ^a	7,91±0,69 ^a	8,47±1,15 ^a
30	8,77±1,40 ^a	10,85±0,29 ^b	9,00±1,83 ^a

^{a,b}Superskrip yang berbeda pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$).

Tabel 2. Kadar hemoglobin (g/dl) pada kelompok tikus kontrol, kelompok tikus yang diimplan *porous tantalum* tanpa lapis, dan kelompok tikus dengan yang diimplan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit

Hari	Kelompok Perlakuan		
	Kontrol (K1)	<i>Porous tantalum</i> tanpa lapis hidroksiapatit (K2)	<i>Porous tantalum</i> berlapis hidroksiapatit (K3)
0	13,03±0,51 ^a	13,03±0,51 ^a	13,03±0,51 ^a
14	15,98±1,31 ^a	15,40±1,39 ^a	15,61±0,52 ^a
30	16,07±1,22 ^a	16,01±1,34 ^a	16,26±1,55 ^a

^aSuperskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$).

Tabel 3. Persentase hematokrit (%) pada kelompok tikus kontrol, kelompok tikus yang diimplan *porous tantalum* tanpa lapis, dan kelompok tikus dengan yang diimplan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit

Hari	Kelompok Perlakuan		
	Kontrol (K1)	<i>Porous tantalum</i> tanpa lapis hidroksiapatit (K2)	<i>Porous tantalum</i> berlapis hidroksiapatit (K3)
0	38,78±0,97 ^a	38,78±0,97 ^a	38,78±0,97 ^a
14	42,70±2,58 ^a	42,59±3,02 ^a	42,54±1,70 ^a
30	40,30±2,07 ^a	41,16±2,87 ^a	39,23±2,90 ^a

^aSuperskrip yang sama pada baris yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak nyata ($P > 0,05$).

penyembuhan luka pasca-operasi yang lebih lama, dan menyebabkan terjadinya infeksi sekunder (Gottrup, 2004).

Data kadar hemoglobin (Hb) pada semua kelompok juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata seperti yang disajikan pada Tabel 2. Peningkatan kadar Hb terjadi secara umum pada semua kelompok perlakuan pada hari ke-14 hingga hari ke-30 namun masih dalam kisaran nilai normal (Thrall *et al.*, 2012). Pengukuran konsentrasi Hb merupakan salah satu bagian yang umum dilakukan sebagai bagian pemeriksaan darah, tingkat dehidrasi, maupun hiperhidrasi sangat memengaruhi kadar hemoglobin (Holsworth *et al.*, 2013). Proses penyembuhan luka melibatkan berbagai fungsi, salah satunya adalah tergantung pada keberadaan oksigen. Secara normal pengiriman oksigen oleh darah tergantung pada oksigen yang terikat pada Hb dalam sel darah merah, dibandingkan pada tekanan oksigen ateri parsial (PO₂). Hal ini terutama berlaku untuk jaringan otot, yang memiliki jarak *intercapillary* kecil dan tingginya konsumsi oksigen (Hunt dan Hopf, 1997). Kadar Hb yang rendah pada pasien dapat meningkatkan komplikasi pasca-operasi akibat kurangnya asupan oksigen (hipoksia) yang menyebabkan kematian jaringan sehingga terjadi gangguan dalam proses persembuhan luka (Kuriyan dan Carson, 2005), memperpanjang proses penyembuhan (Carson *et al.*, 2003) dan meningkatkan kerentanan terhadap infeksi pasca-operasi (Lindholm *et al.*, 2011). Implantasi tantalum *porous* baik tanpa lapis maupun berlapis hidroksiapatit pada tikus juga tidak berpengaruh terhadap gambaran parameter Hb seperti halnya pada jumlah sel darah merah.

Pelapisan *porous tantalum* baik tanpa lapis maupun berlapis hidroksiapatit pada penelitian ini menunjukkan hal yang sama dengan kadar Hb. Data nilai persentase hematokrit menunjukkan tidak adanya perbedaan yang nyata pada di antara kelompok perlakuan seperti yang disajikan pada Tabel 3. Terjadi peningkatan pada semua kelompok perlakuan pada hari ke-14 dan menurun kembali pada hari ke-30. Perubahan persentase hematokrit tersebut masih masih dalam kisaran normal (Thrall *et al.*, 2012). Kadar Hb dan hematokrit yang baik dapat mempercepat waktu proses persembuhan luka. Kecukupan persentase hematokrit dan kadar Hb dalam sel darah merah membuat kebutuhan oksigen jaringan tercukupi. Oksigen merupakan kebutuhan yang penting dalam proses persembuhan luka selain juga menghindari infeksi pasca-operasi (Gottrup, 2004; Zheng *et al.*, 2013).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa implan *porous tantalum* berlapis hidroksiapatit *in vivo* memengaruhi jumlah sel darah merah tetapi tidak memengaruhi kadar hemoglobin dan persentase hematokrit pada tikus *Sprague Dawley*.

DAFTAR PUSTAKA

- Arosa, F.A., C.F. Pereira, and A.M. Fonseca. 2004. Red blood cells as modulators of T cell growth and survival. **Curr. Pharm. Des.** 10(2): 191-201.
- Carson, J.L., M.L. Terrin, and M. Jay. 2003. Anemia and postoperative rehabilitation. **Can. J. Anaesth.** 50(6): 60-64.
- Cohen, R. 2002. A porous tantalum trabecular metal: basic science. **Am. J. Orthop.** 31(4):216-217.
- Fathi, M.H. and V. Mortazavi. 2007. Tantalum, niobium and titanium coatings for biocompa improvement of dental implants. **Dent. Res. J.** 4(2):74-82.
- Gottrup, F. 2004. Oxygen in wound healing and infection. **World. J. Surg.** 28(3):312-315.
- Habibovic, P., F. Barrere, C.A. van Blitterswijk, K. de Groot, and P. Layrolle. 2002. Biomimetic hydroxyapatite coating on metal implants. **J. Am. Ceramic Soc.** 85(3):517-522.
- Holsworth, R.E., Jr., Y.I. Cho, and J. Weidman. 2013. Effect of hydration on whole blood viscosity in firefighters. **Altern. Ther. Health Med.** 19(4):44-49.
- Hunt, T. K. and H.W. Hopf. 1997. Wound healing and wound infection. What surgeons and anesthesiologists can do. **Surg. Clin. North Am.** 77(3):587-606.
- Karageorgiou, V. and D. Kaplan. 2005. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials.** 26(27):5474-5491.
- Kuriyan, M. and J.L. Carson. 2005. Anemia and clinical outcomes. **Anesthesiol. Clin. North Am.** 23(2):315-325.
- Levine, B.R., S. Sporer, R.A. Poggie, C.J. Della-Valle, and J.J. Jacobs. 2006. Experimental and clinical performance of porous tantalum in orthopedic surgery. **Biomaterials.** 27(27):4671-4681.
- Lindholm, P.F., K. Annen, and G. Ramsey. 2011. Approaches to minimize infection risk in blood banking and transfusion practice. **Infect. Disord. Drug Targets.** 11(1):45-56.
- Maho, A., S. Linden, C. Arnould, S. Detriche, J. Delhalle, and Z. Mekhalif. 2012. Tantalum oxide/carbon nanotubes composite coatings on titanium, and their functionalization with organophosphonic molecular films: A high quality scaffold for hydroxyapatite growth. **J. Colloid Interface Sci.** 371(1):150-158.
- Plock, J.A., N. Rafatmehr, D. Sinovcic, J. Schnider, H. Sakai, E. Tsuchida, A. Banic, and D. Erni. 2009. Hemoglobin vesicles improve wound healing and tissue survival in critically ischemic skin in mice. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.** 297(3):2-11.
- Schildhauer, T.A., B. Robie, G. Muhr, and M. Koller. 2006. Bacterial adherence to tantalum versus commonly used orthopedic metallic implant materials. **J. Orthop. Trauma.** 20(7):476-484.
- Thrall, M.A., G. Weiser, R. Allison, and T.W. Campbell. 2012. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.** John Wiley & Sons, USA.
- Zheng, H., J.J. Wu, and J. Wang. 2013. Evaluation of effectiveness and analysis of goal-directed blood transfusion in peri-operation of major orthopedic surgery in elderly patients. **Exp. Ther. Med.** 5(2):511-516.